Ueber den

Einfluss der Alkalescens des Nährmediums

auf das Wachsthum der Bakterien.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

hohen medicinischen Facultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Curt Clericus

approb. Arzt

aus Baerenwinkel bei Stargard in Pommern.

Rostock.

Carl Boldt'sche Hof-Buchdruckerei.

1894.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553619_0145

Seiner verehrten Mutter

in Liebe und Dankbarkeit gewidmet

vom Verfasser.

In der Literatur über die Biologie der Bakterien finden sich erst in neuester Zeit genauere Angaben über Untersuchungen, welche das Wachsthum verschiedener Mikrobien bei verschieden starkem Säure-Procentsatz des Nährbodens bestimmen. Auch über den Einfluss der Alkalescenz auf das Wachsthum der Mikrobien hat erst die allerjüngste Zeit uns einige Forschungen gebracht.

Flügge spricht an einer Stelle seines Lehrbuches über Mikroorganismen aus: »Säure- und Alkaliüberschuss vermögen beide auf Spaltpilze schädlich zu wirken oder ihre Entwicklung zu begünstigen« und fährt bald darauf fort: »Ja, einigen Spaltpilzen, die überhaupt nur bei einem gewissen Säureüberschuss im Nährboden gedeihen — wie z. B. der Bacillus der sauren Milch, der Essigsäurepilz erst von 2% Essigsäure an — ist der Alkaliüberschuss wieder schädlich, der im Allgemeinen durchaus keinen so nachtheiligen Einfluss auf die Spaltpilze hat, wie die freien Säuren, und der von einigen Pilzen, z. B. dem M. ureae, sogar bis zu ausserordentlich hohen Graden der Alkalescenz vertragen wird.« Aber diese Angaben sind ganz generell und bestimmen nicht das Nähere über die Wachsthumsgrenzen bei Alkaligehalt.

In dem Grundriss der Bakterienkunde von C. Fränkel und dem Leitfaden der Bakteriologie von Günther sind ebenfalls keine näheren Angaben

darüber zu finden, welcher Alkaligehalt eines Nährmediums der für das Wachsthum der Bakterien günstigste ist und welcher die Wachsthumsgrenze ist. Eine nach Fertigstellung meiner Arbeit von Hesse in der Zeitschrift für Hygiene XV über den Einfluss der Alkalescenz erschienene Abhandlung konnte ich nicht mehr berücksichtigen.

Etwas eingehender hat sich A. Reinsch mit diesen Fragen beschäftigt. Er sagt darüber in seiner Schrift über »bakteriologische Untersuchungen des Trinkwassers« folgendes: »Sehr verschieden können die Resultate der quantitativen bakteriologischen Untersuchungen des Trinkwassers ausfallen, wenn die Alkalinität des Trinkwassers wechselt. So erhielt ich z. B. in der gewöhnlichen schwach-alkalischen Nährgelatine 475 Keime; setzte ich zu 10 ccm dieser Gelatine 0,005 g Na_2CO_3 hinzu, so entwickelten sich 1140 Keime; bei Zusatz von 0,1 g Na_2CO_3 2976 Keime, bei grösseren Zugaben fiel die Zahl der Keime wieder, bei 0,3 g Na_2CO_3 Zugabe wuchsen gar keine Keime mehr. In einem anderen Versuche — dem, der die geringsten Verschiedenheiten aufwies — hatte sich die Zahl nur verdoppelt. Zusatz von Weinsäure verringerte die Zahl der Bakterien. Da die Alkalinität der Nährgelatine meist nach Gutdünken gewählt wird, so ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass die Untersuchung einer und derselben Probe Wassers in verschiedenen Laboratorien verschiedene Resultate giebt. Würden sich alle Trinkwässer gleich verhalten, so könnte man diesem Uebelstande dadurch begegnen, dass man einen bestimmten Alkaligehalt der Nährgelatine vorschreibt. Das Maximum der Keimzahl erfordert aber bei verschiedenen Wässern eine verschiedene Alkalinität des Nährbodens, und es könnte nur dann ein für die verschiedenen Wässer gleichmässig angepasster Nährboden zu erzielen sein, wenn

man viele Wässer in der von mir ausgeführten Weise untersuchte und den gewonnenen Durchschnitts-Alkaligehalt als den normalen annähme.«

C. Köhler (Dissertation Rostock 1892) stellte fest, dass der Typhusbacillus bei einem Zusatz von mehr als 0,45 % Natronlauge zur Gelatine nicht mehr, bei einem solchen von 0,6 und 0,65 % Kalilauge nur noch schwach sich entwickelt, und dass die gewöhnlichen Wasserbakterien in der mit diesen Alkalien versetzten Gelatine auch dann noch wachsen, wenn der Typhusbacillus nicht mehr wächst. Als den für Wasseruntersuchungen angemessensten Alkaligehalt bezeichnet Reinsch denjenigen von 0,10 bis 0,20 % Natriumcarbonat. Dahmen (Chemiker-Zeitung Jahrgang XVI 1892 No. 49) fand ebenfalls, dass ein Gehalt von 0,15 % Natriumcarbonat der günstigste ist, um die Wasserbakterien zur Entwicklung kommen zu lassen, und dass ein schwach alkalischer Nährboden sich zur Eruirung der Zahl der Wasserbakterien nicht eignet.

Die Untersuchungen mehrerer anderer Forscher haben ergeben, dass speciell der Cholerabacillus in seinem Wachsthum sehr wesentlich durch die Alkalescenz des Nährmediums beeinflusst wird. Ich erinnere nur an die Arbeiten von Schottelius und Dunbar.

E. Fränkel (Deutsche med. Wochenschrift 1892, No. 46) stellte ferner fest, dass man durch Steigerung der Alkalescenz der Nährgelatine das Zustandekommen der Verflüssigung durch den Cholerabacillus wesentlich beschleunigen kann. Dasselbe constatirte Arens (Münchener med. Wochenschrift 1893, No. 10). Er behauptet, dass Zusatz von 0,05 bis 0,08 % Kalilauge zur Gelatine das Optimum des Wachsthums giebt. — Es geht hieraus hervor, dass in der That die Alkalescenz des Nährmediums von grösstem Belange für das Wachsthum der Bakterien ist. Dies näher zu er-

forschen war der Zweck der Untersuchungen, deren Resultate ich im Folgenden mittheile.

Ich benutzte zu meinen Studien ausschliesslich Fleischwasserpeptongelatine. Zu ihr setzte ich Na_2CO_3, bei späteren Versuchen NaOH und K.OH stets in 10% Lösung zum Nährmedium zu. Um jedoch etwaige Irrthümer zu vermeiden, sei hier bemerkt, dass die Nährgelatine für die Kulturen stets soviel Na_2CO_3 oder NaOH oder K.OH enthielt, wie der notirte Procentsatz angiebt, nicht etwa soviel Na_2CO_3-, NaOH- oder K.OH- einer 30%gen Lösung. Angelegt wurden Roll- und Strichkulturen. Die Aufbewahrung der Gelatine, nachdem sie geimpft worden war, erfolgte bei Zimmertemperatur. Zuerst stellte ich Untersuchungen mit Wasser, später mit Reinkulturen verschiedener Bakterien an. Das Ergebniss war folgendes:

Wasser.

I. Ein Tropfen (=1/20 ccm) Rostocker Leitungswasser in mit Natriumcarbonat versetzte Nährgelatine. Rollkultur.

Bei 0,1% Natriumcarbonat entwickelten sich die Keime sehr schnell, wurden im Laufe des zweiten Tages deutlich wahrnehmbar, so dass am dritten Tage 21 Kolonien nebst 4 verflüssigenden gezählt werden konnten.

Anmerkung: Als Zuthaten für die Nährgelatine verwandte ich 125 g gehacktes Fleisch, 2,5 g Pept. sicc. und 125 g Natr. chlor.; die Bereitung erfolgte in der allgemein üblichen Weise. Von Gelatine verwandte ich 25 g, nur bei den höheren Procentsätzen wie Kal. 0,6 und 0,7% und Natr. 0,5% fügte ich 50 g Gelatine hinzu statt 25 g. Die Wassermenge betrug 250 g, so dass der Gelatine-Gehalt des Nährbodens 10% resp. 20% war.

Bei 0,2% Natriumcarbonat fanden sich dagegen nur noch 15 Kolonien und 3 verflüssigende aus der gleichen Menge desselben Wassers in dem gleichen Zeitraume.

Bei 0,3% Natriumcarbonat waren am dritten Tage 12 Kolonien und 4 verflüssigende gewachsen.

Bei 0,4% Natriumcarbonat erschienen 10 Kolonien und 5 verflüssigende.

Bei 0,5% Natriumcarbonat waren 6 Kolonien und 4 verflüssigende gewachsen.

Bei 0,55% Natriumcarbonat fanden sich nur noch 4 Kolonien und 2 verflüssigende am dritten Tage und

bei 0,6% Natriumcarbonat sogar nur 2 Kolonien, unter ihnen 0 verflüssigende.

Ziemlich abweichende Resultate lieferten die beiden folgenden Versuche mit demselben Quantum Leitungswasser, indem nach drei Tagen

bei 0,65% Natriumcarbonat wieder 8 Kolonien und 1 verflüssigende,

bei 0,7% Natriumcarbonat 5 Kolonien und 1 verflüssigende gut und deutlich gewachsen waren.

Bei 0,8% Natriumcarbonat-Zusatz zeigten nur 4 Kolonien und 1 verflüssigende ein deutliches und kräftiges Wachsthum.

Bei den nun folgenden Versuchen wurden jedesmal 2 Tropfen Leitungswasser verwendet. So erhielt ich nach vier Tagen

bei 0,8% Natriumcarbonat diesmal nur 1 Kolonie und 1 verflüssigende,

bei 0,9% dasselbe Resultat,

bei 1,0% nur 1 verflüssigende;

bei 1,1% eine einzige Kolonie; nach 12 Tagen jedoch 3 Kolonien ohne verflüssigende,

bei 1,2% nur 1 verflüssigende,

bei 1,3 % dasselbe Resultat; nach 12 Tagen aber 2 Kolonien und 1 verflüssigende,

bei 1,4 % eine einzige Kolonie; nach 12 Tagen ebenso.

Bei allen folgenden Versuchen bis 2,0 % Natriumcarbonat ist nichts mehr gewachsen.

Eine zur Controlle wiederholte Impfung mit 3 Tropfen Leitungswasser ergab dagegen bei 0,8 %, 0,9 %, 1,0 %, 1,1 %, 1,2 %, 1,3 % überall ziemlich zahlreiche Kolonien, verflüssigende nur bei 0,8 % und bei 0,9 %.

Diese Verschiedenheit im Ergebniss erklärt sich wohl daraus, dass durch den Zusatz von 3 Tropfen einerseits die Zahl der aufgeimpften Keime, andererseits auch die Alkalinität des Nährbodens — da jedesmal nur sehr wenig Nährgelatine zu den betreffenden Rollkulturen verwandt wurde — verändert wurde.

II. Zwei Tropfen Leitungswasser auf mit NaOH versetzte Nährgelatine. Rollkultur.

Bei 0,1 % Zusatz von NaOH waren nach 2 Tagen schon geringe Spuren des Wachsthums, nach 3 Tagen dagegen deutliche, wenn auch nur noch wenig entwickelte Kolonien nachweislich, während nach circa 10 Tagen sich zahlreiche Kolonien, worunter viele verflüssigende, zeigten.

Bei 0,2 % bis 0,3 % und 0,4 % waren dagegen viel zahlreichere und auch grössere Kolonien entwickelt, als bei 0,1 %, doch ging die Zahl der verflüssigenden bei 0,3 und 0,4 % auf 4 bis 6 herunter.

Bei 0,45 % konnten am 3. Tage erst wenige und nur mässig entwickelte Kolonien festgestellt werden, während nach 12 Tagen ca. 30 Kolonien, darunter mehrere verflüssigende, gezählt werden konnten.

Bei 0,5 % waren nur wenige Kolonien, auch nach 12 Tagen nur mässig entwickelte, zu erkennen; verflüssigende waren nicht unter ihnen.

Bei 0,55 % und noch höheren Procentsätzen war die Gelatine nicht mehr erstarrt zu erhalten.

III. Zwei Tropfen Leitungswasser auf mit KO.H versetzte Nährgelatine. Rollkulturen.

Bei 0,1 % hatten sich nach 2 Tagen schon viele, darunter einige grosse, nach 3 Tagen ausserordentlich zahlreiche, grosse und kleine Kolonien entwickelt, von denen in der Folgezeit viele verflüssigten.

Bei 0,2 % waren nach 2 Tagen erst einige grössere Kolonien sichtbar, doch wuchs die Menge derselben noch im Laufe der nächsten Tage auf ca. 20 Kolonien, worunter stark verflüssigende sich befanden.

Bei 0,3 % war das Wachsthumsverhältniss ein ganz ähnliches als bei 0,2 % sowohl in den ersten wie in den späteren Tagen. Verflüssigende waren unter den zahlreichen Kolonien schliesslich ca. 7.

Bei 0,4 % und 0,5 % war nach 2 Tagen noch gar nichts gewachsen, und auch eine mikroskopische Untersuchung blieb resultatlos. Indessen entwickelte sich im Laufe der nächsten 8 Tage in der Gelatine von 0,4 % noch eine ganze Anzahl von Kolonien, darunter eine verflüssigende, in der Gelatine von 0,5 % dagegen nur eine geringe Zahl bei mässigem Wachsthum und ohne zu verflüssigen.

Bei 0,6 % erstarrte trotz mehrmaliger Versuche die Gelatine nicht. Indem ich nun den Procentgehalt an Gelatine im Nährboden verdoppelte,

— also bei sonst üblichen Zuthaten 50 g Gelatine statt 25 g zuführte —, gelang es mir nur noch bei 0,6 und 0,7 % die Nährgelatine erstarren zu machen.

Bei 0,7 % waren wieder ziemlich zahlreiche Kolonien entwickelt und 1 verflüssigende darunter zu erkennen.

Bevor ich nun mit den Ergebnissen meiner Wasseruntersuchungen abschliesse, ist es wohl zweckmässig, einen kurzen Vergleich zwischen den Resultaten Reinsch's und den meinigen anzustellen.

Reinsch's Untersuchungen ergaben auf einfachen unversetzten Gelatine-Nährboden ca. 475 Keime, während meine Impfung mit Rostocker Leitungswasser auf gleichem Nährboden ca. 440 Keime ergab. Bei Zusatz von allmählich steigenden Gaben Na_2CO_3 wuchs die Zahl der Keime nach Reinsch's Angaben bis der Alkaligehalt des Nährbodens 0,01 % erreichte. Beim Ueberschreiten dieser Grenze fiel alsdann die Anzahl der Keime, bis endlich bei 0,3 % Na_2CO_3 das Wachsthum ganz erlosch.

Meine Untersuchungen, die mit 0,1 % Na_2CO_3 begannen, lieferten nur bei diesem Procentsatz noch eine geringe Zunahme der Keime (ca. 500) gegenüber dem Resultat der Impfung auf unversetzte Gelatine (ca. 440 Keime). Bei 0,2 % fiel schon die Zahl der Keime unter 440, während das Wachsthum erst bei 1,5 % gänzlich erlosch.

Das Uebereinstimmende dieser Ergebnisse und derjenigen Dahmen's liegt darin, dass bei einer Erhöhung des Alkaligehalts auf 0,1 % eine Zunahme des Wachsthums der Wasserbakterien erfolgt und dass bei 0,2 % das Wachsthumsoptimum schon überschritten ist.

Nachdem ich die Einwirkung der Alkalien auf die Leitungswasser-Bakterien kennen gelernt hatte, ging ich nunmehr auf den speciellen Theil meiner Arbeit

über, und untersuchte, wie sich einzelne bestimmte Mikrobien und zwar B. Anthracis, B. Typhi, B. Violaceus, der Soorpilz, Staphylococcus pyogenes citreus, B. Friedländer's, M. prodigiosus, B. der Hühnercholera, B. Cyanogenes und B. Cholera asiaticae gegenüber den Alkalien verhalten. Diese Versuche habe ich auf den dankenswerthen Vorschlag des Herrn Professor Uffelmann hin angestellt, auf dessen Veranlassung hin schon Schlüter und Helm die Säurewirkung auf z. Th. dieselben Mikrobien festgestellt haben.

Dass nun B. Chol. as., Typhi, Anthr., Friedländ. u. a. m. auf alkalischem Boden gedeihen, geht ohne Weiteres schon daraus hervor, dass dieselben in den menschlichen Geweben, die ja fast ausschliesslich alkalisch reagiren, so häufig vorkommen und sich vermehren, wie auch aus den bisherigen Kulturversuchen auf alkalischer Gelatine. Indess ist es doch von Belang, auch zu wissen, bis zu welchem Alkaligrade des Nährmediums noch ein Gedeihen der einzelnen stattfindet. Diese Grenzbestimmung des Wachsthums habe ich durch Anlegung von Strichkulturen auf verschieden stark alkalisch gemachter Gelatine festzustellen versucht; in Untenstehendem folgen die Resultate dieser Untersuchungen.

A. Mit Kalilauge versetzter Nährboden.

1. Im Verhältniss von 0,09%.

Der B. Anthracis zeigte nach 24 Stunden noch gar kein Wachsthum; am 2. Tage jedoch war eine geringe Entwicklung auf der Fläche schon wahrzunehmen, während am 3. Tage ein deutlicher Belag längs des Impfstriches und sichtliche Einziehung der Kolonie unter die Fläche des Nährbodens für ein zweifelloses gutes Gedeihen sprach. — Etwas schneller wuchs der

B. Typhi, denn schon nach 24 Stunden war ein deutliches Wachsthum zu konstatiren; die Kultur entwickelte sich im Laufe der nächsten Tage gut, so dass dieselbe sich in einem breiten grauweissen Streifen darstellte.

Bei B. Violaceus hatte sich am 2. Tage gleichfalls der Impfstrich ziemlich stark verbreitert und grau verfärbt, bis am 4. Tage die Kolonie bei schönstem Wachsthum eine deutlich blau-violette Färbung annahm.

Das schwächste Wachsthum zeigte der Soor-Pilz, bei dem im Laufe der ersten zwei Tage nichts erkennbar war. Am 3. und 4. Tage war dann allerdings ein mässiges Gedeihen wahrnehmbar, das am 5. Tage noch deutlicher wurde; indessen blieb das Aussehen dieser Kolonie gegenüber dem kräftigen der übrigen zweifellos zurück.

Beim Staph. pyog. citr. blieb das Aussehen noch ein unbestimmtes während der beiden ersten Tage; am 3. Tage aber war die Kolonie längs des ganzen Impfstriches deutlich gewachsen, und am 4. Tage trat deutliche Verflüssigung ein.

Friedländer's Bacillus zeigte schon nach einem Tage nachweisbares Wachsthum, das im Laufe der nächsten Tage noch schnell und deutlich zunahm.

Ebenso war beim M. Prodig. nach einem Tage nachweisbares Wachsthum längs des ganzen Impfstriches erkennbar, am 2. Tage hatte sich die Kultur ziemlich stark verbreitert unter prachtvoll rother Farbenentwicklung, und am 3. Tage fand eine Verflüssigung statt, die sich am 4. zu einer starken ausbildete.

Beim Bacillus der Hühnercholera war nach einem Tage Sicheres noch nicht festzustellen, dagegen zeigte sich am 2. Tage ein offenbares Wachsthum auf verschiedenen Stellen des Impfstriches, der sich in kurzer Zeit mit einem kräftigen Rasen belegte.

Ein gutes Wachsthum zeigten B. Cyanogenes und B. Chol. as., deren Kulturen schon nach einem Tage ein geringes, nach 2 Tagen ein ganz deutliches und kräftiges Fortschreiten offenbarten; am 3. Tage begann sich bei ersterem die Nährgelatine schwach hellgrün, am 4. Tage deutlich olivegrün zu verfärben, während bei Chol. as. am 3. Tage Verflüssigung sich einstellte, die sich am 4. Tage zu einer starken ausbildete.

2. Im Verhältniss von 0,12 %.

Auf diesem Nährboden entwickelte sich B. Anthr. ungefähr, so wie auf dem früheren, d. h. es war nach einem Tage noch nichts nachzuweisen, und erst nach 2 Tagen trat ein mässiges Wachsthum ein. Nach 3 Tagen war die Kolonie gut gewachsen.

B. Typhi zeigte im Laufe der beiden ersten Tage keine Entwicklung, erst am 3. Tage war ein geringes Wachsthum wahrnehmbar, das im Laufe des 4. Tages allmählich fortschritt, so dass die Kultur am 5. Tage eine gute Entwicklung zeigte.

Bei B. Violac. zeigte sich im Laufe der ersten 5 Tage keine wahrnehmbare Veränderung, jedoch trat am 6. Tage eine geringe Verflüssigung ohne Farbenentwicklung ein, welche erstere bis zum 8. Tage noch deutlicher wurde, aber doch im Ganzen nur beschränkt blieb.

Das schwächste Wachsthum unter dieser Serie zeigte wiederum der Soor-Pilz, der nach Verlauf der ersten vier Tage ein kaum bemerkbares und später auch ein nur sehr mässig bleibendes Wachsthum zeigte.

Eine gute Entwicklung dagegen lieferte Staph. pyog. citr., bei dem schon am 2. Tage geringes Wachsthum und beginnende Verflüssigung festzustellen war, am 4. Tage aber in der jetzt sehr stark verflüssigten Gelatine überall zahlreiche gelbe Staphylococcen-Kolonien umherschwammen.

Ungefähr ebenso gut gediehen die anderen Kulturen; der B. Friedländer zeigte schon nach 1 Tage geringe Entwicklung, die nach 2 Tagen recht deutlich wurde.

Der M. Prodig. war schon nach 16 Stunden merklich gediehen, so dass im Laufe des 2. Tages die Entwicklung der Kultur eine gute zu nennen war; auch begann sich eine geringe Rothfärbung einzustellen. Am 3. Tage begann diese Kultur zu verflüssigen.

Ein ziemlich gutes Fortkommen hatte der Bacillus der Hühnercholera, dessen Gedeihen schon nach dem 2. Tage in seinem Anfang bestimmt nachzuweisen war.

Ebenso wie bei M. Prodig. war schon nach 16 Stunden ein geringes Wachsthum sowohl bei B. Cyanog. wie bei B. Chol. as. sichtbar, das sich im Laufe der beiden nächsten Tage noch sehr verstärkte. Bei ersterem stellte sich am 3. Tage Grünfärbung ein, bei letzterem Verflüssigung.

3. Im Verhältniss von 0,2 %.

Etwas später als bei den vorigen schwächeren Alkalescenzen trat hier bei B. Anthr. das Wachsthum ein, indem am 3. Tage ein ganz geringes, am 4. erst ein deutliches Wachsthum und am 6. Tage endlich Einziehung der Kultur festzustellen war.

Beim B. Typhi war in den ersten 3 Tagen kein Wachsthum eingetreten, erst am 4. Tage war ein geringes, am 7. bis 8. ein deutliches längs des ganzen Impfstrichs sichtbar.

B. Violac. zeigte erst nach 7 Tagen ganz geringes Wachsthum und mit dem 8. Tage trat langsam Verflüssigung jedoch ohne Farbstoffbildung ein. Bei einer zur Controlle später angelegten neuen Kultur hatte sich dieselbe nach 4 Tagen unter schöner hellblauer Farbstoffbildung gut entwickelt.

Beim Soor-Pilz trat erst am 4. Tage ein ganz geringes Wachsthum ein, das auch in der Folgezeit sehr unbedeutend blieb.

Im Laufe des 4. Tages war bei Staph. pyogenes ein geringes Wachsthum deutlich wahrnehmbar, während am 6. Tage Verflüssigung eintrat.

Gut entwickelte sich der Bacillus Friedl., der am 2. Tage schon unzweifelhaft gewachsen war, am 3. sich vorzuwölben begann und in den folgenden Tagen einen dicken weisslichen Belag annahm.

Auch M. Prodig. zeigte nach 2 Tagen eine deutliche und gute Entwicklung unter Farbstoffbildung; schon am 3. Tage trat ziemlich starke Verflüssigung ein.

Ebenfalls nach 2 Tagen war beim B. der Hühnercholera ein deutliches Wachsthum erkennbar, in den folgenden Tagen bildete sich längs des Impfstrichs ein dicker, weisslicher Belag.

Bei B. Cyanog. zeigte sich im Laufe des 2. Tages schon merkliches Wachsthum, am 3. Tage trat ganz schwache, am 5. Tage deutliche Grünfärbung ein.

Dagegen war bei B. Chol. as. im Laufe des 2. Tages nur ein mässiges Wachsthum, im Laufe des 3. und 4. ein stärkeres zu konstatiren, und erst am 5. Tage begann die Kolonie zu verflüssigen.

4. Im Verhältniss von 0,3 %.

Bei diesem Procentsatze war B. Anthr. und B. Violaceus gar nicht mehr gewachsen. Auch B. Typhi zeigte nach 10 Tagen erst eine kaum wahrnehmbare, verkümmerte Kultur, doch konnten mikroskopisch dem Aussehen nach unveränderte Bacillen nachgewiesen werden.

Genau ebenso langsam und schwach wie bei B. Typhi entwickelte sich auch der Soor-Pilz. Ziemlich langsam wuchs gleichfalls der Staph. citreus, bei dem

am 5. Tage erst geringes, am 6. jedoch deutliches Fortkommen sichtbar wurde. B. Friedl. dagegen war schon nach 2 Tagen merklich gewachsen, so dass sich am 4. Tage die Kultur vorwölbte und deutlich weisslichen Belag zeigte. Ein gutes Fortkommen boten auch alle anderen Kulturen dar. So wies der Bacillus der Hühnercholera nach 6 Tagen, wenn auch mässiges, so doch noch erkennbares Wachsthum auf.

M. Prodig. war nach 2 Tagen dagegen schon deutlich aufgegangen, nahm am folgenden Tage eine schöne hellrothe Färbung an und begann schnell zu verflüssigen.

B. Cyanog. war am 4. Tage schon deutlich entwickelt und am 6. Tage hatte sich eine schöne Grünfärbung des Nährbodens eingestellt.

B. Cholerae asiat. war nach 2 Tagen etwas, nach 3 Tagen deutlich gewachsen und nach 6 Tagen trat Verflüssigung ein.

5. Im Verhältniss von 0,45 %.

Bei B. Anthr., Typhi, Violac., Soor, Hühnercholera und Staph. citreus war auch nach 9 Tagen nichts mehr gewachsen. — Zur Controlle impfte ich am 9. Tage auf die alten, nicht aufgegangenen Kulturen von Anthr., Typhi, Soor und Hühnercholera noch einmal, und nunmehr gingen merkwürdiger Weise sämmtliche drei neuen Impfungen verhältnissmässig sehr schnell auf. B. Anthr. war nach 2 Tagen schon deutlich und ziemlich gut gewachsen, so dass im mikroskopischen Präparat die zahlreichsten Stäbchen nachgewiesen werden konnten. B. Typhi entwickelte sich bis zum 5. Tage schon nachweislich, nach 6½ Tagen dagegen zu einem breiten Rasen. Der Soor-Pilz wiederum war schon am 2. Tage merklich gewachsen, nach 4½ Tagen hatte

sich längs des ganzen Impfstriches ein dicker weisslicher Belag gebildet. B. der Hühnercholera endlich war nach 2 Tagen gut entwickelt.

Soweit die Resultate der Aufimpfungen.

Beim B. Friedl. war schon nach 3 Tagen auf einzelnen Stellen des Impfstriches ein zwar mässiges, doch deutliches Wachsthum zu erkennen. Am 4. Tage waren diese Stellen zu einem mässigen, weisslichen Belag, der sich etwas vorwölbte, aufgeschossen. Noch besser gedieh M. Prodig., der sich nach 2 Tagen schon gut unter Farbstoffbildung entwickelt hatte und bei starkem Wachsthum am 5. Tage zu verflüssigen begann. — Ein ähnlich gutes Fortkommen hatte B. Cyanog., das am 3. Tage deutlich, wenn auch nicht besonders stark hervortrat. Am 4. Tage zeigte sich etwas Grünfärbung, und am 7. Tage war das Wachsthum sowohl wie die Grünfärbung vorzüglich. — Gut war B. Chol. as. gediehen, denn nach 30 Stunden liess sich schon ein deutliches Wachsthum feststellen, während am 3. Tage der Impfstrich breit und dick belegt war. Am 6. Tage trat Verflüssigung ein.

6. Im Verhältniss von 0,5 %.

Als nicht gewachsen schieden aus: B. Anthr., Typhi, Violac., Hühnercholera und Soor-Pilz und als zweifelhaft, jedenfalls aber als ausserst schlecht entwickelt Staph. und B. Friedl.

Auch auf einige von diesen nicht entwickelten Kulturen impfte ich noch einmal auf und erhielt dasselbe merkwürdige Resultat wie oben, dass nämlich die zweite aufgeimpfte Kultur von B. Anthr. z. B. schon nach 3 Tagen deutliches Wachsthum mit breitem grauen Belag und Einziehung zeigte; ebenso erhielt ich bei B. der Hühnercholera, wo die erste Impfung auch

nach 2 Tagen nicht die geringste Aenderung zeigte, nach der zweiten Impfung auf dieselbe Stelle schon nach 2 Tagen ein üppiges Wachsthum, indem sich der ganze Impfstrich breit, dick grau belegte. Bei Staph. war nach 4 Tagen noch absolut nichts wahrzunehmen, weshalb ich am 5. Tage »aufimpfte«. Gleich am nächsten Tage war nunmehr ein Wachsthum schon nachweisbar, am 3. Tage nach der Aufimpfung begann die Kultur stark zu verflüssigen. — Bei der ersten Kultur von B. Friedl. schien sich am 6. Tage erst ein schwach grauer Belag über der Impfung zu bilden, doch blieb die Kultur eine durchaus verkümmerte. Eine zur Controlle neu angelegte Kultur ergab nach 12 Tagen ein negatives Resultat. Auf letztere impfte ich nunmehr auf, und es entwickelte sich nach 2 Tagen an einer Stelle des Impfstriches ein grauweisslicher Belag, der sich in der Folgezeit vorzuwölben begann. — Deutlich gewachsen sind die noch folgenden drei und zwar M. Prodig., der nach 3 Tagen deutlich gewachsen, am 4. weissröthlich gefärbt und bis zum 7. Tage ziemlich stark verflüssigt war. — Kaum weniger gut gedieh B. Cyanog., bei welchem nach 3 Tagen beginnendes Wachsthum nachweisbar wurde, während am 6. Tage die ganze Kultur schön grün gefärbt war bei gutem Wachsthum. — Von B. Chol. as. war bei der ersten Kultur erst nach 6 Tagen ein nur auf eine Stelle des Impfstriches beschränkter Theil deutlich aufgegangen, während bei einer zweiten neu angelegten Kultur nach 5 Tagen ein kräftiges Wachsthum, am 7. Tage beginnende Verflüssigung zu konstatiren war.

7. Im Verhältniss von 0,6 %.

Bei B. Anthr., Typhi, Violac., dem Soor-Pilz, dem B. der Hühnercholera, Friedl. und Staphylococcus citreus war nichts mehr gewachsen. Versuchsweise

vorgenommene »Aufimpfungen« auf Anthr., Friedl. und Staph. ergaben schon nach 2 Tagen ein positives Resultat; die Staph.-Kultur zeigte allerdings nur mässiges Wachsthum. Eine auch bei B. Typhi, Violac. und Soor-Pilz vorgenommene »Aufimpfung« blieb erfolglos. — Dagegen wuchs noch M. Prodig. bis zum 4. Tage wahrnehmbar, wenn auch nur mässig, verfärbte sich am 5. Tage hellrosa und begann am 7. Tage zu verflüssigen. — Bei B. Cyanog. liess sich ebenfalls noch am 5. Tage schwaches Wachsthum bemerken, das allmählich fortschritt. Am 8. Tage begann Grünfärbung sich einzustellen, die am 10. Tage ziemlich ausgeprägt war. — Von B. Chol. as. ergab die Impfung bis zum 7. Tage ein negatives, und erst eine vorgenommene »Aufimpfung« nach 2 Tagen ein positives Resultat. Eine zur Controlle neu angelegte Kultur lieferte indess schon nach 4 Tagen einen schmalen, weisslichen Belag über der Impfung, ein fortschreitend gutes Wachsthum und eine am 7. Tage eintretende Verflüssigung.

8. Im Verhältniss von 0,65 %.

Alle Kulturen zeigten kein Wachsthum mehr, bis auf M. Prodig. und B. Chol. as., und selbst von letzterem ergab der erste Versuch ein negatives Resultat. Erst zur Controlle neu angelegte Kulturen ergaben bei M. Prodig. nach 5 Tagen kaum wahrnehmbares Gedeihen, nach 8 Tagen rosa Verfärbung mit langsamer Verflüssigung, bei B. Chol. as. nach 6 Tagen schwaches Wachsthum, nach 8 Tagen ziemlich starke Verflüssigung.

9. Im Verhältniss von 0,7 %.

Bei diesem Procentsatz wuchs kein Bacterium mehr, nur M. Prodig. entwickelte sich langsam,

begann nach 8 Tagen sich schwach zu verfärben, später zu verflüssigen.

B. Mit Natronlauge versetzter Nährboden.

1. Im Verhälniss von 0,1 %.

B. Anthr. zeigte nach 5 Tagen schwaches Wachsthum, das auch in der Folgezeit sich nicht hob. — Ebenso war B. Typhi nach Verlauf von 2 Tagen nur mässig entwickelt, bildete sich jedoch bis zum 4. Tage zu einem kräftigen Rasen aus. — Die beiden Kulturen von B. Violac. und vom Soor-Pilz hatten, obgleich deutlich gewachsen, gleichfalls nur ein mässiges Gedeihen; so zeigte B. Violac. erst nach 6 Tagen beginnendes Wachsthum mit allmählicher, ganz schwacher Verflüssigung längs des Impfstriches ohne Farbstoffbildung, während sich der Soor-Pilz in ganz ähnlicher langsamer Weise zu einer mittelmässig entwickelten Kultur ausbildete. — Recht gutes Gedeihen wies Staph. citreus auf, der nach 4 Tagen deutliches und gutes Wachsthum und mit dem 6. Tage beginnende starke Verflüssigung zeigte. — Vom B. Friedl. war die angelegte Kultur schon nach 2 Tagen deutlich und gut gewachsen mit beginnender Verwölbung des Rasens. — Ein gleich schnelles und gutes Gedeihen wies nach 2 Tagen unter Farbstoffentwicklung M. Prodig. auf, indem am 3. Tage auch allmähliche Verflüssigung eintrat. — Auch der Bacillus der Hühnercholera zeigte am 2. Tage schon ganz geringes, am 3. Tage aber deutliches Wachsthum. — Deutlich und gut entwickelt waren endlich auch die Kulturen von B. Cyanogenes und B. Chol. as., von denen erstere am 4. Tage sich schön grün zu färben begann, letztere hingegen am 6. Tage ziemlich stark verflüssigt war.

2. Im Verhältniss von 0,2 %.

Bei diesem Alkaligehalt war die Impfung mit B. Anthr. auch nach 10 Tagen gänzlich erfolglos; eine »Aufimpfung« auf diese Kultur ergab auch erst am 6. Tage an nur zwei Punkten beginnendes schwaches Wachsthum. — B. Typhi begann erst nach 6 Tagen schwach wahrnehmbar sich zu entwickeln, und nach 12 Tagen war im Wachsthum auch nur ein ganz geringer Fortschritt eingetreten. — Ein ganz ähnliches langsames und schwaches Gedeihen zeigte B. Violac., indem nach 8 Tagen erst an einzelnen kleinen Stellen geringe Verflüssigung ohne jede Farbstoffbildung sichtbar wurde, und auf dieser mässigen Entwicklungsstufe blieb die Kultur stehen. — Der Soor-Pilz endlich wies nach 5 Tagen unbestimmtes, nach 7 Tagen gleichfalls nur sehr schwaches Wachsthum auf, das sich auch in der Folgezeit nicht erheblich veränderte. — Die anderen 6 Kulturen hatten alle ein mehr oder minder gutes Fortkommen. Bei Staph. citreus war nach 3 Tagen ein geringes Wachsthum zu konstatiren, und nach 4 Tagen begann längs des Impfstrichs streckenweise Verflüssigung einzutreten, die allmählich zunahm. — Auch B. Friedl. hatte nach 2 Tagen eine ziemlich gute Entwicklung aufzuweisen, so dass sich die Kultur nach 3 Tagen vorzuwölben begann. — M. Prodig., B. der Hühnercholera, B. Cyanog. und B. Chol. as. zeigten nach 2 Tagen bis auf B. der Hühnercholera, der nur mässig entwickelt war, sonst allesammt ein ziemlich gutes Wachsthum, und zwar M. Prodig. mit schöner rother Farbstoffentwicklung und deutlicher Verflüssigung am 4. Tage; B. Cyanog. nahm am 5. Tage deutliche Grünfärbung an, und B. der Hühnercholera endlich war nach 4 Tagen leidlich, B. Chol. asiat. gut gewachsen.

3. Im Verhältniss von 0,3 %.

Gar nicht mehr waren B. Anthr., Typh., Violac. und der Soor-Pilz gewachsen. Eine zweite zur Controlle neu angelegte Kultur von Soor zeigte nach 8 Tagen ein kaum nachweisbares, jedenfalls äusserst mässiges Wachsthum. — Auch von Staph. citreus war nach 6 Tagen noch nichts nachzuweisen bis auf einen kleinen ca. stecknadelkopfgrossen gelblichen Punkt, der sich in der späteren Zeit nicht mehr vergrösserte. — B. Friedl. dagegen war nach 2 Tagen schon deutlich und nach 3 Tagen gut entwickelt. — Ebenso gut gedieh M. Prodig., der nach 2 Tagen zu einer starken Kultur entwickelt war, tags darauf schöne Farbstoffbildung aufwies und am 5. Tage zu verflüssigen begann. — Beim B. der Hühnercholera hatte die Impfung langsameren Erfolg; denn das mässige Wachsthum, das sich am 4. Tage feststellen liess, besserte sich zwar im Laufe der folgenden Tage, konnte aber auch da kein energisches genannt werden. — Anders bei B. Cyanog., bei welchem nach 4 Tagen ein beginnendes, noch mässiges, nach 6 Tagen dagegen deutliches und gutes Wachsthum eintrat, während sich erst am 7. Tage Grünfärbung einstellte. — B. Chol. as. entwickelte sich schon nach 2 Tagen zu einer deutlichen Kultur, die sich schnell und gut weiterbildete, jedoch erst nach 7. Tagen zu verflüssigen begann.

4. Im Verhältniss von 0,4 %.

Ebenso wenig wie bei der vorigen Alkalescenzstärke waren hier B. Anthr., Typhi, Violac. und Soor-Pilz gewachsen. Eine auf die Typhuskultur vorgenommene Aufimpfung ergab erst nach 8 Tagen ein sehr mässiges Wachsthum, das auch gar keine Fortschritte machte, doch konnten Typhusbacillen durch gefärbte und ungefärbte Präparate mikroskopisch nach-

gewiesen werden. — Bei Staph. citreus blieb die Impfung bis zum 6. Tage ganz erfolglos; daher impfte ich auf diese Kulturen nochmals auf, und nunmehr trat schon nach 2 Tagen merkliches Wachsthum, nach 4 Tagen starke Verflüssigung ein. — Sehr langsam und schwach entwickelte sich B. Friedl., nur stellenweise tauchten kleine Rasen auf. — M. Prodig. begann auch erst am 7. Tage mässiges Wachsthum mit Rosa-Verfärbung zu zeigen, während eine deutliche Verflüssigung erst nach 9 Tagen eintrat. — Auch beim B. der Hühnercholera liess sich mit Bestimmtheit ein Wachsthum nicht mehr nachweisen. Von den wenigen mikroskopisch nachweisbaren Bacillen war nicht ausgeschlossen, dass sie durch zu starke Impfung aufgetragen waren. — Ebenso blieb vom B. Cyanog. die Kultur unfruchtbar. — Die erste Kultur von B. Chol. as. war ebenfalls nicht mehr entwickelt. Eine zweite neu angelegte Kultur war dagegen schon nach 4 Tagen wahrnehmbar gewachsen. Am 9. Tage trat Verflüssigung ein.

5. Im Verhältniss von 0,45 %.

Bei diesem Procentsatz war gar nichts mehr entwickelt. Auch M. Prodig. blieb bis zum 10. Tage ganz unverändert. Eine hierauf erfolgte Aufimpfung ergab dann allerdings nach 4 Tagen deutliches Wachsthum mit beginnender Verflüssigung.

6. Im Verhältniss von 0,5 %.

Wiederum war keine einzige Kultur gewachsen. Versuchsweise nahm ich auf die alten Kolonien von Staph. citreus und M. Prodig. Aufimpfungen vor und erhielt bei Staph. citreus schon nach 4 Tagen an einzelnen Stellen beginnende Entwicklung, während am

8. Tage ebendort Verflüssigung eintrat. Bei M. Prodig. blieb auch die Aufimpfung bis zum 10. Beobachtungstage erfolglos.

Diese meine Versuche nun habe ich aus dem Grunde mit 0,7 % Kalilauge und 0,5 % Natronlauge abgeschlossen, weil die mit mehr Alkali versetzte Nährgelatine trotz mehrfacher Versuche nicht mehr erstarren wollte.

Haben meine Untersuchungen nun einerseits bestätigt, dass die Empfindlichkeit der Mikrobien gegen Alkali eine individuelle ist, so schienen mir dieselben andererseits noch das merkwürdige, mir unerklärliche Ergebniss geliefert zu haben, dass die Alkalisirung mit Natronlauge auf das Gedeihen der Mikrobien einen schädlicheren Einfluss ausübe, als die mit Kalilauge. — Herr Professor Nasse macht mich aber vor dem Druck der Arbeit darauf aufmerksam, dass diese Folgerung nicht richtig ist, dass die Versuche vielmehr mit Bestimmtheit ergaben, es entscheide nur der Grad der Alkalescenz, nicht die Natur des Alkali. In der Alkalescenz entsprechen sich nämlich 40 Gew.-Theile (= 1 Molekül, darin H = 1 gesetzt) Na HO und 56 Gew.-Theile K HO. Aus den 10 Versuchen (cf. die Tabelle) ergiebt sich nun, dass die Entwickelung der Mikrobien im Durchschnitt aufhört bei Zusatz von 0,355 % Na HO und von 0,495 % K HO, — diese Zahlen aber stehen fast genau in dem Verhältniss von 40 : 56.

Einer anderen auffallenden Erscheinung sind wir bei diesen Versuchen begegnet, nämlich der, dass durch gleichnamige Aufimpfung auf eine schon nicht mehr entwickelte Kultur jenseits der Versuchsgrenze ein Gedeihen der neu aufgeimpften Keime auch jenseits eben dieser Wachsthumsgrenze möglich ist. Indess

ist das Wachsthum der Aufimpfung jenseits der Grenze natürlich auch eingeschränkt, so dass z. B. B. Typhi bei 0,2 % Kalilauge noch langsam, aber deutlich wächst, bei 0,3 % nur eine ganz verkümmerte Kolonie liefert und darüber hinaus gar nicht mehr wächst, dass also B. Typhi in der Aufimpfung auf eine alte nicht aufgegangene 0,5 % Kultur noch deutlich, wenn auch langsam wieder wächst, in der Aufimpfung auf eine nicht entwickelte 0,6 % Kultur dagegen auch ein negatives Resultat liefert.

Solche Aufimpfungen habe ich nun mit fast allen diesen Mikrobien bei den verschiedensten Procentsätzen angestellt, und sämmtliche haben ein positives Resultat geliefert, sofern diese Aufimpfungen auf Nährböden erfolgten, deren Alkalescenz nicht allzu weit hinter der jedesmaligen Wachsthumsgrenze der niedern Organismen liege. Von einem Zufall kann also nicht die Rede sein. Diese Erscheinung rührt wohl davon her, dass die Mikroben der ersten Impfung bei ihrem Zerfalle Substanzen lieferten, welche den Nährboden an der betreffenden Stelle veränderten, und zwar so, dass er nun für das Wachsthum der Bakterien zweiter Impfung günstigere Bedingungen darbot.

Nach diesen Ausführungen scheint es zweckmässig, noch einen gedrängten Ueberblick über die Wachsthumsverhältnisse der einzelnen Mikrobien bei den verschiedenen Graden der Alkalescenz des Nährbodens zu geben.

Von allen Impfobjecten zeigten B. Anthracis und B. Violaceus die grösste Empfindlichkeit gegen Alkalescenz, denn beide wuchsen nur noch kümmerlich bei 0,2 % Kalilauge. Bei 0,2 % Natronlauge wuchs nur äusserst kümmerlich B. Violaceus, während B. Anthracis sich gar nicht entwickelte. Kaum besser entwickelten sich B. Typhi und der Soor-Pilz, Staphylococcus und B. der Hühnercholera, die bei 0,2 % Natronlauge und

0,3 % Kalilauge nur ein spätes und mangelhaftes Gedeihen hatten; B. der Hühnercholera wuchs noch sehr mässig bei 0,3 % Natronlauge: B. Friedländer dagegen war noch bei 0,45 % Kalilauge ziemlich schnell, wenn auch nur mässig und bei 0,3 % Natronlauge noch schnell und gut entwickelt. Ein ziemlich gutes Gedeihen zeigte B. Cyanogenes, der noch bei 0,6 % Kalilauge und 0,3 % Natronlauge langsam und mässig wuchs. Mit am besten wuchs B. Cholerae asiaticae, der sich bei 0,09 bis 0,4 % Kalilauge rasch und gut, aber selbst noch bei 0,65 % Kalilauge langsam und mässig, bei 0,4 % Natronlauge ziemlich schnell und zwar in allen Fällen unter allmählicher starker Verflüssigung entwickelte und erst bei 0,7 % Kalilauge wie bei 0,45 % Natronlauge zu wachsen aufhörte. M. Prodigiosus endlich wies sogar noch bei 0,7 % Kalilauge und 0,4 % Natronlauge ein allerdings sehr langsames und schwaches Gedeihen auf.

Im Allgemeinen liegt also das Wachsthumsoptimum für die meisten der von mir untersuchten Bakterien mehr bei mässiger als bei hoher Alkalescenz des Nährmediums. Gleichgültig ist der Grad der Alkalescenz aber keineswegs.

Zum Schluss erfülle ich die angenehme Pflicht, dem Herrn Professor Dr. Uffelmann für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Unterstützung bei derselben meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.